

Промышленная технология производства биомассы морской диатомовой водоросли цилиндротеки с высоким содержанием фукоксантина

Р.Г. Геворгиз, С.Н. Железнова, Н.И. Бобко, М.В. Нехорошев

ФГБУН Институт морских биологических исследований им.А.О.Ковалевского,
пр. Нахимова, 2, г. Севастополь, 299011, РФ, e-mail: r.gevorgiz@yandex.ru

Ю.В. Зозуля, И.П. Уваров, А.П. Репков

ООО «МикроБиоТехнологии», г. Новосибирск.
ул. Демакова, 30, Новосибирская обл., Советский район (Академгородок),
630128, РФ e-mail: microbiotex@mail.ru

2014 – 2016

Новосибирск – Севастополь

Cylindrotheca closterium – представитель бентоса

Науке известно более **30 000 видов** микроводорослей, но в промышленных масштабах культивируются около **15-20 видов**. В РФ в промышленных масштабах культивируют **2 пресноводных вида** микроводорослей: сирулина (*Spirulina platensis*) и хлорелла (*Chlorella vulgaris*)

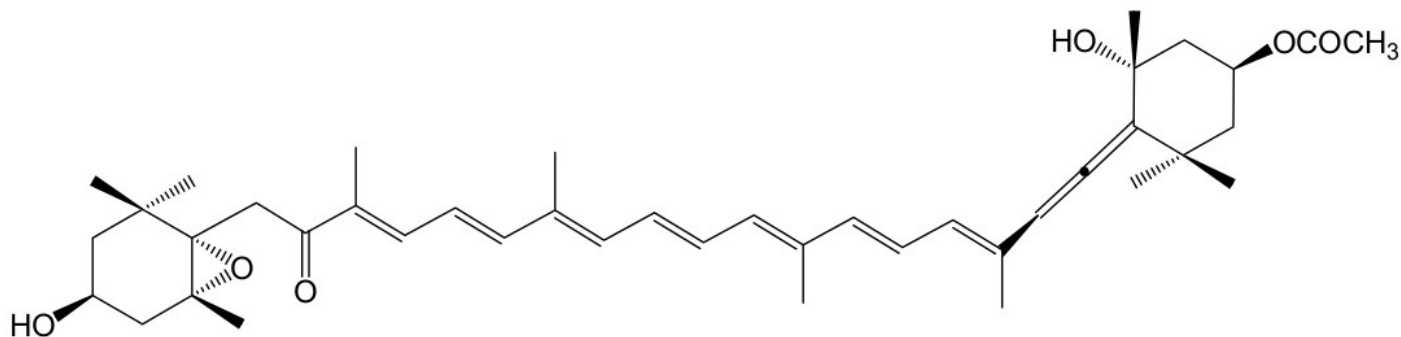
Особый интерес представляют **морские микроводоросли**, поскольку в процессе своей жизнедеятельности они способны синтезировать ряд уникальных физиологически активных соединений, **аналогов которым нет** ни у пресноводных микроводорослей, ни у высших растений, ни у других групп организмов.



Особенности цилиндротеки

- Клетки содержат большее количество кремния, Способна накапливать йод и железо.
- В составе фотосинтетического аппарата содержание фукоксантина достигает 2 % сухой массы.
- Содержание жирных кислот достигает 40%, из них полиненасыщенные жирные кислоты составляют 22 % общего количества жирных кислот.
- Активно растет и вегетирует при высоких концентрациях меди, марганца и др. микроэлементов.

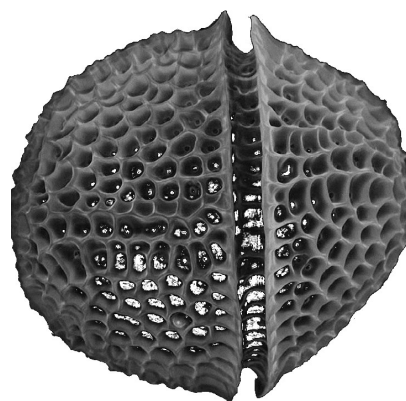
Фукоксантин – ценный морской каротиноид



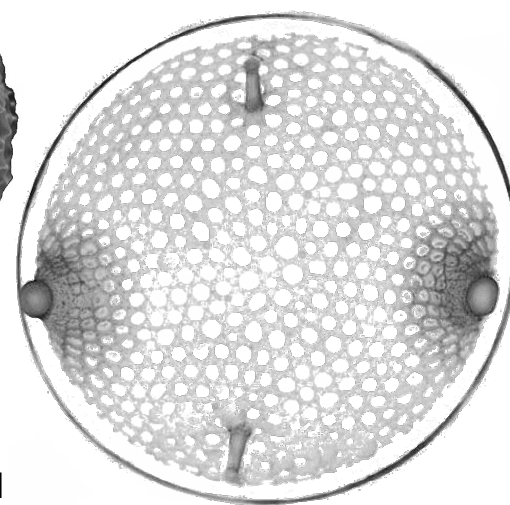
Синтезируется только в клетках морских макро- и микроводорослей.
Широко используется в медицине, косметике, пищевой промышленности



Бурые
водоросли



Микроводоросли



Cylindrotheca closterium – представитель бентоса

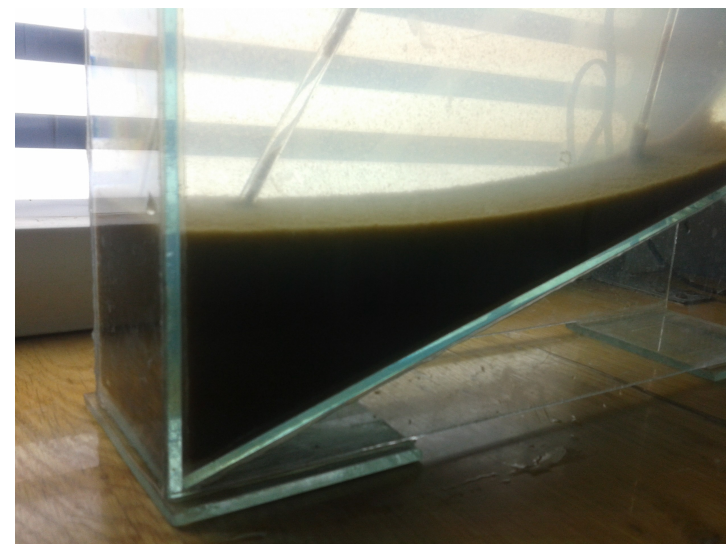


Суспензия
цилиндротеки
из культиватора



Суспензия
цилиндротеки
через 3 минуты

Клетки цилиндротеки при
недостаточном перемешивании
оседают на дно в течение минут



Промышленный фотобиореактор для микроводорослей



Широко используемые для промышленного культивирования микроводорослей фотобиореакторы типа «бассейн» характеризуются низкими затратами энергии для перемешивания, но **малопродуктивны**.

Промышленный фотобиореактор для микроводорослей



Высокопродуктивные фотобиореакторы вертикального типа требуют использование дорогостоящего оборудования, а также **значительных затрат энергии** для перемешивания культуры, более того, из-за проявления эффекта масштабирования затраты энергии возрастают непропорционально объёму суспензии микроводорослей.

Газовихревой фотобиореактор для микроводорослей



Принцип работы такой же как у торнадо



Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»



Ведутся работы в области эпидемиологии, молекулярной биологии, вирусологии, бактериологии, генной инженерии, биотехнологии, экологии и биологической безопасности.

Наукоград р.п. Кольцово,
Новосибирская область

Задачи центра:

1. Исследование возбудителей наиболее опасных инфекционных заболеваний;
2. Обеспечение постоянной готовности к осуществлению диагностики новых вирусных инфекций;
3. Разработка и практическое внедрение средств диагностики, профилактики и лечения вирусных заболеваний.

Газовихревой фотобиореактор для микроводорослей



Наиболее совершенной с точки зрения эффективности перемешивания, затрат энергии на перемешивание суспензии, массообмена, масштабирования, простоты конструкции и удобства в обслуживании является газовихревой фотобиореактор – разработка новосибирских учёных.

Газовихревой фотобиореактор для микроводорослей

Принципиально новый тип перемешивания

«Мягкое», но активное перемешивание осуществляется за счет создания над суспензией и внутри суспензии вихревых потоков (торнадо) посредством трения воздуха о поверхность суспензии.

1. Во всем объеме суспензии практически отсутствуют «мертвые» зоны, а также зоны локального завышения плотности суспензии. Клетки во всем объеме распределены равномерно;
2. Мощное придонное течение и восходящий поток в центре фотобиореактора позволяет получить интенсивную культуру любых «тяжелых» неприкрепленных организмов, при этом потоки, перемешивающие культуру максимально приближены к потокам естественных мест обитания бентоса;
3. В плотной культуре микроводорослей на поверхности суспензии практически не образуется пена за счет создания газового вихря над суспензией;
4. Вихревой способ перемешивания не является травматичным для любых видов клеток;
5. За счет трения потоков воздуха о поверхность суспензии в значительной степени увеличивается массообмен кислорода и углекислоты между суспензией и атмосферой.

Наша цель

Разработать промышленную технологию получения биомассы бентосно-планктонной морской диатомеи *S. closterium* с высоким содержанием фукоксантина

В настоящее время в мире не существует промышленных технологий выращивания бентосных морских микроводорослей в интенсивной культуре, постольку существующие конструкции промышленных фотобиореакторов характеризуются высокими затратами для эффективного перемешивания суспензии. Недостаточное перемешивание суспензии приводит к образованию «мертвых» зон в рабочем объёме, что делает невозможным культивирование «тяжелых» бентосных видов микроводорослей из-за скопления (оседания) клеток в «мертвых» зонах.

Промышленная культура цилиндротеки



Эксперимент проводили в лаборатории управления биосинтезом микроводорослей отдела биотехнологий и фиторесурсов Института морских биологических исследований РАН

Рабочий объём суспензии в газовихревом фотобиореакторе составлял 580 л, рабочий слой — 0,08 м, освещаемая поверхность — 7,3 кв.м. В качестве источника освещения использовались лампы ДРЛ-700, которые давали среднюю освещённость на поверхности культуры 7,1 клк . Эксперименты проводили при $\text{pH} = 8 - 9$.

На протяжении всего эксперимента культура *C.closterium* непрерывно перемешивалась за счет создания вихревых потоков воздуха посредством вращения активатора с частотой 20 Гц (1200 об/мин).

Отделение биомассы от культуральной среды осуществляли посредством фильтрования суспензии через синтетическую гидрофобную ткань.

Высушивали биомассу в потоке теплого воздуха (30°C).

Питательная среда для диатомей RS

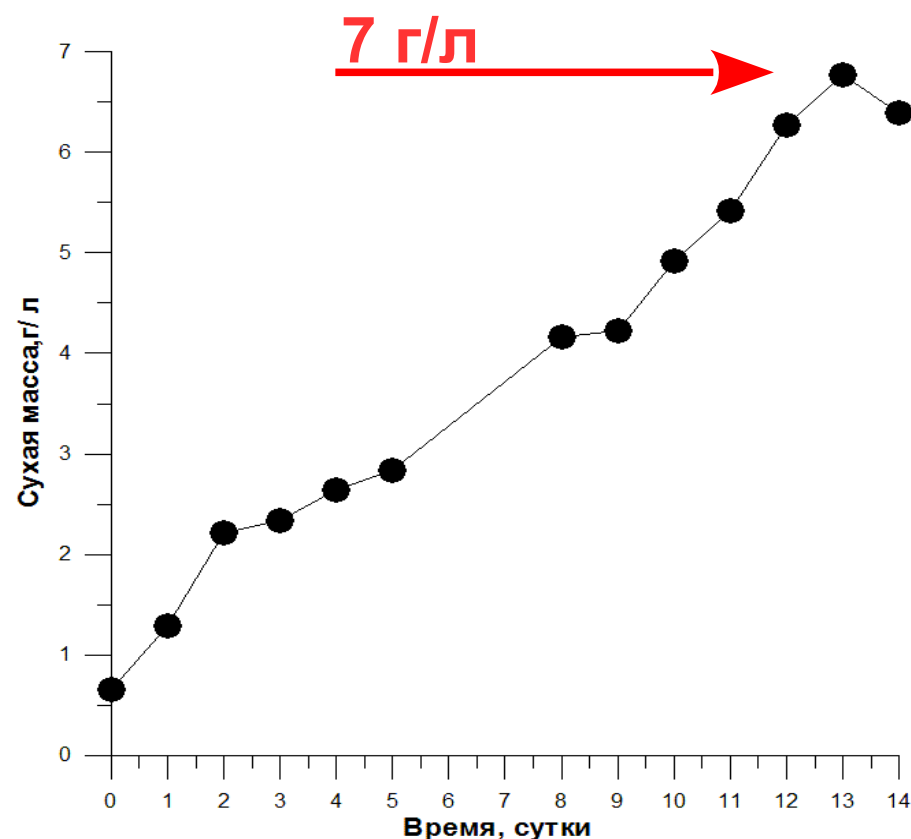
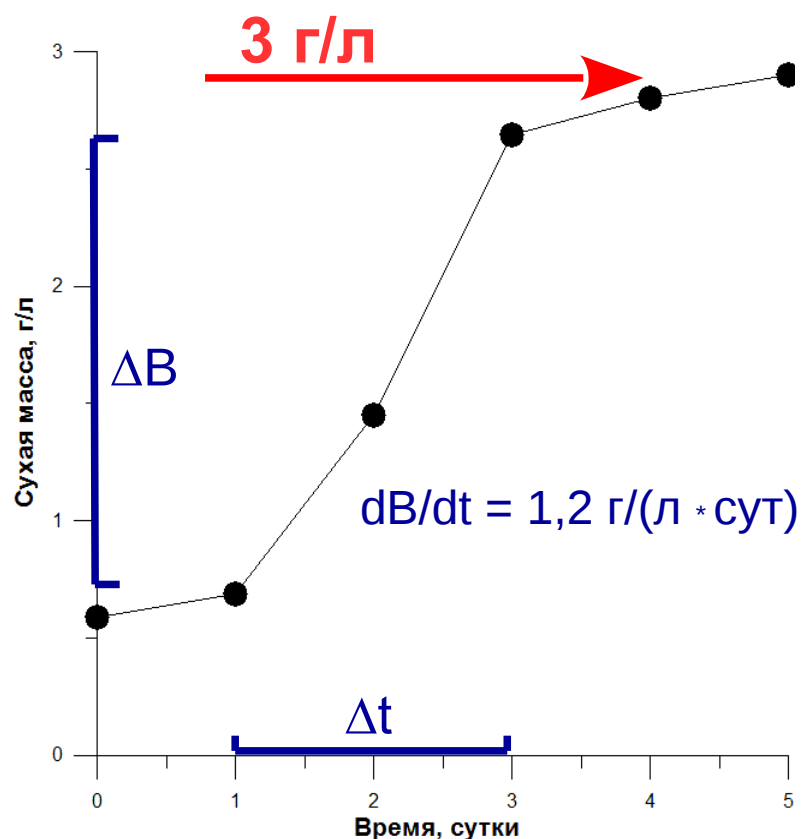


Эксперимент проводили в лаборатории управления биосинтезом микроводорослей отдела биотехнологий и фиторесурсов Института морских биологических исследований РАН

Для интенсивного культивирования цилиндротехи использовали разработанную нами питательную среду RS

Компонент	Навеска, г·л ⁻¹
1. NaNO ₃	0,971
2. NaH ₂ PO ₄ × 2H ₂ O	0,0643
3. Na ₂ SiO ₃ × 9H ₂ O	0,3865
4. Na ₂ EDTA	0,0872
5. FeSO ₄ × 7H ₂ O	0,05
6. CuSO ₄ × 5 H ₂ O	0,0002
7. ZnSO ₄ × 7 H ₂ O	0,00044
8. CoCl ₂ × 6 H ₂ O	0,0002
9. MnCl ₂ × 4 H ₂ O	0,00036
10. Na ₂ MoO ₄ × 2H ₂ O	0,00012

Накопление биомассы



Приведены две накопительные кривые с расчетом биогенных элементов в питательной среде на максимальную плотность культуры 3 г/л и на 7 г/л сухой массы. Максимальная плотность культуры достигла расчетных величин. Максимальная продуктивность культуры *C. closterium* составила 1,2 г/л (95 г/(кв.м×сут)). Накопление фукоксантина от 1 до 1.5 % от сухой массы.

Использование газовыхревой системы культивирования позволило получить продуктивность культуры микроводорослей, превышающую в 3-4 раза показатели других систем культивирования

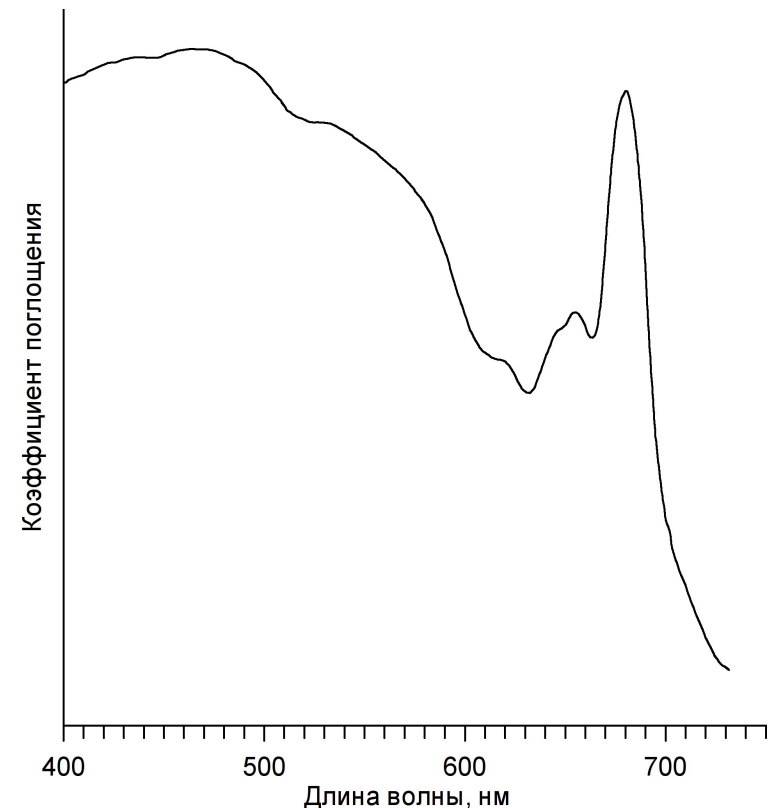
Технологические особенности культуры *C. closterium*

1. Как представитель бентоса *C. closterium* легко оседает на дно при выключении перемешивания, что позволяет сконцентрировать суспензию в 20 и более раз в течении 1-2 часов без затрат энергии;

2. Спектр поглощения культуры характеризуется максимальной широтой поглощения света, что позволяет получать плотную интенсивную культуру при относительно малых облученностях;

3. Клетки *C. closterium* в ходе эволюции приобрели способность утилизировать световую энергию более эффективно в сравнении с планктонными видами, поэтому продуктивность *C. closterium* в сравнении с другими видами микроводорослей выше;

4. Несмотря на то, что клетки цилинротеки достаточно малы (6-20 мкм) при сгущении суспензии они агглютинируют и образуют конгломераты, что позволяет использовать наиболее дешевый метод отделения биомассы от культуральной среды – фильтрацию.



Выводы

1. За 15 дней культивирования получено 3.5 кг сухой биомассы.
2. За 26 дней культивирования получено 42 г фукоксантина
3. В качестве источника углерода при накопительном культивировании использовался атмосферный CO_2 без дополнительной подачи CO_2 из баллона, что в значительной степени упростило процесс культивирования.

Таким образом, впервые разработана промышленная технология производства биомассы бентосно-планктонной морской диатомеи *C. closterium* с высоким содержанием фукоксантина

Спасибо за внимание

